BD Triple Sugar Iron Agar (TSI Agar)

APPLICATION

Lorsqu'elle est utilisée comme milieu de mise en culture, la **BD Triple Sugar Iron Agar** (gélose à trois sucres et sel de fer) sert à la différenciation des *Enterobacteriaceae*, en particulier la différenciation des *Salmonella* par rapport aux autres bactéries entériques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Hajna a mis au point la formulation de la TSI Agar en ajoutant du saccharose à la formulation de la gélose à deux sucres (glucose et lactose), la Kligler Iron Agar.[1,2] La Triple Sugar Iron Agar contient trois glucides (glucose, lactose et saccharose). La fermentation de ces glucides provoque une production d'acide, qui est détectée par l'indicateur au rouge de phénol. Des changements de couleurs en résultent, et le milieu vire au jaune en cas de production d'acide, ou au rouge en cas d'alcalinisation. La formation d'acide dans le culot est due à la présence de deux sucres, le lactose et le saccharose, dont les concentrations sont beaucoup plus élevées que la concentration de glucose ; la formation d'acide à partir du glucose est inhibée par une oxydation rapide de la petite quantité d'acide présente dans la partie inclinée du tube, qui entraîne une réaction faisant passer le milieu à un pH neutre ou alcalin lorsque seul du glucose est fermenté. L'ajout de saccharose permet d'exclure certains coliformes et micoorganismes *Proteus* susceptibles d'attaquer le saccharose, mais pas le lactose, pendant une durée d'incubation de 24 à 48 h. En cas de pH neutre ou alcalin, l'acide sulfhydrique (produit à partir de thiosulfate de sodium) réagit avec le sel d'ammonium ferreux et entraîne la formation de sulfure de fer noir. Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique du milieu.

A l'origine, la formule de la gélose TSI est prévue pour une application en tant que milieu en tubes, avec un culot et une surface inclinée. Cette technique permet la différenciation du glucose, du lactose, et/ou des fermentants du saccharose et permet aussi de déceler la production éventuelle d'acide sulfhydrique.

Lorsqu'elle est utilisée en tant que milieu de mise en culture, les réactions observées à la surface de la gélose en boîte de Pétri se limitent à la formation de produits alcalins (produits à partir des peptones contenues dans le milieu, si ni le glucose, ni le lactose, et/ou ni le saccharose sont fermentés), ou de produits acides issus du lactose et/ou du saccharose, qui sont les principaux sucres présents dans le milieu. En outre, la production d'acide sulfhydrique survient si aucun des sucres n'est fermenté en produits acides, car la formation d'acide sulfhydrique nécessite un environnement au pH neutre ou alcalin. La plupart des souches de *Proteus*, connues pour leur capacité à produire de l'acide sulfhydrique dans un milieu à pH neutre ou alcalin, acidifient le milieu car elles fermentent le saccharose et ne présentent pas de coloration noire dans ce milieu, tandis que les souches de *Salmonella,* qui ne fermentent ni le saccharose ni le lactose, produisent des colonies noires.

REACTIFS

BD Triple Sugar Iron Agar

Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	10,0 g	Glucose	1,0
Digestion peptique de tissu animal	10,0	Sulfate d'ammonium ferreux	0,2
Chlorure de sodium	5,0	Thiosulfate de sodium	0,2
Lactose	10,0	Rouge de phénol	0,025
Saccharose	10,0	Gélose	13,0

pH 7,3 ± 0,2

*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.
Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.
Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer.
Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.
Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus de détails, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber les boîtes de Pétri en conditions aérobie entre 35 et 37 °C pendant 18 à 24 h. Inclure un milieu non sélectif tel qu'une Columbia Agar with 5% Sheep Blood pour servir de référence de croissance.

Souches	**Croissance**
Escherichia coli ATCC 25922	Croissance bonne à importante ; colonies jaunes, milieu jaune autour des colonies
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	Croissance bonne à importante ; colonies de couleur rose, à centre noir ; milieu de couleur rouge
Salmonella Abony DSM 4224	Croissance bonne à importante ; colonies de couleur rose, à centre noir ; milieu de couleur rouge
Shigella flexneri ATCC 12022	Croissance bonne à importante ; colonies de couleur rose ; milieu de couleur rouge

METHODE

Matériaux fournis

BD Triple Sugar Iron Agar (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Il s'agit d'un milieu différentiel qui ne doit pas être utilisé pour l'isolement primaire de pathogènes à partir d'échantillons cliniques. Il est utilisé pour la différenciation de cultures pures issues de milieux d'isolement et peut aussi être utilisé en tant que milieu de repiquage à partir de bouillon d'enrichissement de *Salmonella* (voir aussi **CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**).

Mode opératoire du test

Ensemencer la **BD Triple Sugar Iron Agar** avec une colonie suspecte prélevée dans une boîte de Pétri d'isolement primaire ou avec une pleine anse de milieu prélevée à partir de bouillon d'enrichissement de *Salmonella* (p. ex. un Selenite broth - bouillon de sélénite). Incuber en atmosphère aérobie entre 35 et 37 °C pendant 18 à 24 h. Ne pas incuber en atmosphère enrichie au dioxyde de carbone, et ne pas dépasser 24 h d'incubation car cela risquerait de produire des résultats erronés.

Résultats

Généralement, les réactions constatées sur les boîtes de Pétri de **BD Triple Sugar Iron Agar** sont telles qu'indiquées ci-dessous :

Microorganismes	Croissance
Escherichia coli	Colonies jaunes, milieu de couleur jaune
Klebsiella/Enterobacter	Colonies jaunes, à l'aspect muqueux, milieu de couleur jaune
Proteus	Colonies dans les tons de rouge à marron, essaimage ; milieu rouge ; les souches positives pour le saccharose sont susceptibles de produire des colonies jaunes auréolées de jaune
Salmonella (souches positives au H_2S)	Colonies roses à centre noir ; milieu de couleur rouge
Shigella et Salmonella négatives au H_2S	Colonies roses ; milieu de couleur rouge
Enterococcus	Petites colonies jaunes ; le milieu autour des colonies est rouge

Pour obtenir une identification complète de la croissance issue de ce milieu, les souches isolées doivent faire l'objet d'une différenciation supplémentaire, réalisée au moyen de tests biochimiques et/ou sérologiques.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Triple Sugar Iron Agar** est un milieu non sélectif utilisé pour la différenciation de colonies présumées de S*almonella* à partir des autres *Enterobacteriaceae* obtenues à partir de milieux d'isolement, ou comme milieu de repiquage à partir d'un bouillon d'enrichissement de *Salmonella*. Dans ce milieu, la plupart des souches de *Salmonella* produisent des colonies roses à centre noir, tandis que les colonies d'autres microorganismes sont soit rouges, soit jaunes et ne présentent pas de centre noir. Cependant, certaines souches de *Salmonella* ne présentent pas de centre noir et risquent donc de ne pas être décelées si des tests de différenciation supplémentaires ne sont pas réalisés.
De plus, le milieu ne permet pas de différencier *Shigella* de certaines autres *Enterobacteriaceae*. Par conséquent, toutes les colonies roses qui ne présentent pas de centre noir doivent faire l'objet de dépistages visant à mettre en évidence la présence éventuelle de *Salmonella* et de *Shigella,* p. ex. au moyen de tests d'agglutination sur lame avec les antisérums appropriés.
Des tests biochimiques ou sérologiques supplémentaires sont nécessaires pour confirmer les résultats obtenus sur ce milieu.[3]
Les réactions obtenues sur **BD Triple Sugar Iron Agar**, fournie en tant que milieu de mise en culture, sont susceptibles de varier par rapport à celles décrites pour une Triple Sugar Iron Agar fournie en tant que tubes.[4]
La **BD Triple Sugar Iron Agar** n'est pas un milieu d'isolement primaire pour les *Salmonella* ou d'autres pathogènes.

Evaluation des performances

Au cours d'une procédure d'évaluation interne (voir le tableau 1), trente souches d'*Enterobacteriaceae, Enterococcus* spp. et de *Staphylococcus aureus*, et notamment dix souches de *Salmonella* de sérotypes différents, ont été testées sur **BD Triple Sugar Iron Agar**.[5] Les boîtes de Pétri ont été incubées à l'air ambiant pendant 20 h, entre 35 et 37 °C. Parmi les dix souches de *Salmonella*, neuf ont produit des colonies rouges à centre noir, et une colonie n'a pas présenté de centre noir. Toutes les autres espèces ont produit les réactions attendues. Cela donne un pourcentage de sensibilité de 96,8 % pour l'ensemble des souches testées, et de 91 % pour les souches de *Salmonella*.

REFERENCES

1. Hajna, A. A. 1945. Triple-sugar iron agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria. J. Bacteriol. 49:516-517.
2. Kligler, I. J. 1918. Modifications of culture media used in the isolation and differentiation of typhoid, dysentery, and allied bacilli. J. Exp. Med. 28:319-322.
3. Bopp, C. A., F. W. Brenner, P. I. Fields, J. G. Wells, and N. A. Stockbrine. 2003. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A.

Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London
5. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Germany.

CONDITIONNEMENT

BD Triple Sugar Iron Agar

N° réf. 254458 Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

Tableau 1 : Résultats des performances

Espèces (Nobre de souches)	**Croissance sur BD Triple Sugar Iron Agar**
Enterococcus faecalis (1)	Petites colonies jaunes, milieu de couleur jaune
Enterococcus faecium (1)	
Escherichia coli, positives au lactose (4)	Colonies jaunes de taille moyenne à grande, milieu de couleur jaune
Escherichia coli, négatives au lactose (1)	Colonies roses de taille moyenne à grande ; milieu de couleur rouge à rose
Morganella morganii (1)	Colonies roses de taille moyenne à grande ; milieu de couleur rouge à rose
Proteus mirabilis (2)	Colonies roses, de taille moyenne à grande, présentant des zones d'essaimage ; milieu de couleur rouge à rose
Proteus penneri (1)	
Proteus vulgaris (1)	Colonies jaunes de taille moyenne à grande, présentant des zones d'essaimage, milieu de couleur jaune
Providencia alcalifaciens (1)	Colonies roses de taille moyenne à grande ; milieu de couleur rouge à rose
Providencia rettgeri (1)	
Providencia stuartii (1)	
Salmonella Abony (1)	Colonies roses à centre noir, de taille moyenne à grande ; milieu de couleur rouge à rose
Salmonella Augustenborg (1)	
Salmonella Bovismorbificans (1)	
Salmonella Enteritidis (1)	
Salmonella Gallinarum (1)	
Salmonella Hadar (1)	
Salmonella Saintpaul (1)	
Salmonella Senftenberg (1)	
Salmonella Typhimurium (1)	
Salmonella Typhimurium (1)	Colonies roses de taille moyenne à grande ; milieu de couleur rouge à rose
Shigella boydii (1)	Colonies roses de taille moyenne à grande ; milieu de couleur rouge à rose
Shigella flexneri (1)	
Shigella sonnei (1)	
Staphylococcus aureus (2)	Colonies jaunes, de taille petite à moyenne ; milieu de couleur jaune

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.

BD Diagnostic Systems
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
© 2003 Becton, Dickinson and Company